

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(54) PRODUCTION OF γ -LINOLENIC ACID

(11) 63-14695 (A) (43) 21.1.1988 (19) JP
 (21) Appl. No. 61-158649 (22) 8.7.1986
 (71) SUNTORY LTD (72) YOSHIJI SHINMEN(2)
 (51) Int. Cl. C12P7/64/(C12P7/64,C12R1:645)

PURPOSE: To obtain γ -linolenic acid by a simple process in high yield and inexpensively, by cultivating a microorganisms such as *Mortierella elongata*, etc., belonging to the genus *Mortierella* in a medium.

CONSTITUTION: *Mortierella elongata* SAM 0219 strain is inoculated into a medium containing 0.1~30wt% carbon source (e.g. glucose), 0.01~5wt% nitrogen source (e.g. meat essence), hydrocarbon, fatty acid (salt), etc., cultivated by aerated spinner culture method, etc. at pH 4~10 at 5~40°C for 2~10 days to form and accumulate lipid containing γ -linolenic acid in the cultivated mold. Then the prepared mold is separated and extracted with methanol to give a lipid compound of γ -linolenic acid. Then the compound is esterified with methanol, prepared methyl γ -linolenate is hydrolyzed with an alkali, extracted with an ether, etc., and purified.

(54) PRODUCTION OF BISHOMO γ -LINOLENIC ACID

(11) 63-14696 (A) (43) 21.1.1988 (19) JP
 (21) Appl. No. 61-158650 (22) 8.7.1986
 (71) SUNTORY LTD (72) YOSHIJI SHINMEN(2)
 (51) Int. Cl. C12P7/64/(C12P7/64,C12R1:645)

PURPOSE: To obtain bishomo- γ -linolenic acid (BLA) by a simple process in high yield and inexpensively, by cultivating a specific microorganism in a medium.

CONSTITUTION: *Mortierella elongata* SAM 0219 strain belonging to the genus *Mortierella*, capable of producing BLA, is inoculated into a medium containing 0.1~30wt% carbon source (e.g. glucose), 0.01~5wt% nitrogen source (e.g. peptone) and, if necessary, hydrocarbon, fatty acid (salt), fats and oils, etc., and cultivated by aerated spinner culture method, etc., at 5~40°C at 4~10pH for 2~10 days to form and accumulate BLA or lipid containing BLA in the mold. Then the mold is separated from the medium, the prepared mold is extracted with methanol, etc., to give a lipid compound of BLA. Then the compound is esterified with methanol, prepared BLA methyl ester is hydrolyzed with an alkali, extracted with an ether, etc., and purified.

(54) PRODUCTION OF EICOSAPENTAENOIC ACID

(11) 63-14697 (A) (43) 21.1.1988 (19) JP
 (21) Appl. No. 61-158651 (22) 8.7.1986
 (71) SUNTORY LTD (72) YOSHIJI SHINMEN(2)
 (51) Int. Cl. C12P7/64/(C12P7/64,C12R1:645)

PURPOSE: To obtain eicosapentaenoic acid (EPA) useful as thrombosis, etc., in expensively and in high yield, by cultivating a specific microorganisms in a medium.

CONSTITUTION: *Mortierella elongata* SAM 0219 strain capable of producing EPA is inoculated into a medium containing 0.1~30wt% carbon source (e.g. molasses), 0.01~5wt% nitrogen source (e.g. urea), hydrocarbon, fatty acid (salt), fats and oils, etc. Then, a mold is multiplied at optimum growth temperature of 20~30°C, subjected to shaking culture at 10~20°C at pH 4~10 for 2~10 days and lipid containing EPA in the mold is formed and accumulated. Then the mold is separated from the medium, collected and extracted with methanol, etc., to give a lipid compound of EPA. Then the compound is esterified with methanol, prepared EPA methyl ester is hydrolyzed with an alkali, extracted with an ether, etc., and purified.

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-14696

⑬ Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和63年(1988)1月21日

C 12 P 7/64
// (C 12 P 7/64
C 12 R 1:645)

7236-4B

審査請求 未請求 発明の数 1 (全8頁)

⑮ 発明の名称 ビスホモγ-リノレン酸の製造方法

⑯ 特 願 昭61-158650

⑰ 出 願 昭61(1986)7月8日

⑱ 発 明 者 新 免 芳 史 京都府乙訓郡大山崎町円明寺鳥居前8-1

⑲ 発 明 者 清 水 昌 京都府京都市中京区西の京伯楽町14

⑳ 発 明 者 山 田 秀 明 京都府京都市左京区松ヶ崎木ノ本町19-1

㉑ 出 願 人 サントリー株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号

㉒ 代 理 人 弁理士 青 木 朗 外4名

明 細 書

1. 発明の名称

ビスホモγ-リノレン酸の製造方法

2. 特許請求の範囲

1. モルティエレラ(Mortierella) 属に属し、
ビスホモγ-リノレン酸生産能を有する微生物
を培養して、ビスホモγ-リノレン酸、又はビ
スホモγ-リノレン酸を含有する脂質を生成せ
しめ、そしてビスホモγ-リノレン酸を採取す
ることを特徴とするビスホモγ-リノレン酸の
製造方法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は醗酵法によるビスホモγ-リノレン
酸の製造方法に関する。

(従来技術)

ビスホモγ-リノレン酸(エイコサトリエン
酸)は魚油、海藻等の構成脂肪酸のひとつとして
存在することが知られている。しかしながら、そ

の含量はわずかであるため単離精製品はたいへん
高価なものとなっており、生産効率の高い製法の
開発が強く望まれている。なお、発酵法によるビ
スホモγ-リノレン酸の製造方法は知られてい
ない。

(発明が解決しようとする問題点)

本発明は、従来ビスホモγ-リノレン酸を生
産する能力を有することが知られていなかったモ
ルティエレラ属微生物を使用して、安価な常用の
培地を用いて、高収率で、しかも単純な工程でビ
スホモγ-リノレン酸を製造することができる
方法を提供しようとするものである。

(問題点を解決するための手段)

上記の目的はモルティエレラ属に属しビスホ
モγ-リノレン酸生産能を有する微生物を培養し
てビスホモγ-リノレン酸又はビスホモγ-
リノレン酸を含有する脂質を生成せしめ、そして
ビスホモγ-リノレン酸を採取することを特徴

とするビスホモ-γ-リノレン酸の製造方法により達成される。

(具体的な説明)

本発明においては、モルティエラ属に属し、ビスホモ-γ-リノレン酸生産能を有する微生物であれば、すべて使用することができる。このような微生物として、例えばモルティエラ・エロンガタ(*Mortierella elongata*) IFO 8570、モルティエラ・エキシグア(*Mortierella exigua*) IFO 8571、モルティエラ・ヒグロフィラ(*Mortierella hygrophila*) IFO 5941等を挙げることができる。これらの菌株はいずれも、財団法人醗酵研究所からなんら制限なく入手することができる。

また、本発明者らが土壌から分離した菌株モルティエラ・エロンガタSAM 0219(微工研菌寄第8703号)を使用することもできる。

次に、上記の菌株SAM 0219(微工研菌寄第8703号)の菌学的性質を記載する。

(3)

ロニーの直径は50-53mm、気菌糸の発達は乏しい、気菌糸が密にからまりあうことがある。胞子のう胞子の形成は非常に良好、胞子のう柄は気菌糸より生じる。ニンニクに類似した臭いあり。

4. LCA寒天培地(培地の調製方法は、三浦宏一郎、工藤光代著“水生不完全菌のための一寒天培地”日本菌学会会報11巻、116-118頁、1970年に従った)

コロニーの生育は良好、培養2日目のコロニーの直径は27-29mm、培養5日目のコロニーは直径64-66mm、コロニーは浅裂状を呈する、気菌糸の発達はコロニーの中心部を除いて乏しい、胞子のう胞子の形成は良好。胞子のう柄は気菌糸より生じる。ニンニクに類似した臭いあり。

検鏡観察

各培地の検鏡標本およびコロニーの直接検鏡で、胞子のう柄、胞子のう柄の分岐の仕方、胞子のう、胞子のう胞子などを観察した。

(5)

各培地における生育状態

培養条件：25℃、暗黒下

1. 麦芽エキス寒天培地

コロニーの生育は良好、培養2日目のコロニーは直径28-31mm、培養5日目のコロニーは直径65-72mm、コロニーは浅裂状を呈する、気菌糸の発達は乏しい、胞子のう胞子の形成は良好、胞子のう柄は気菌糸より生じる、ニンニクに類似した臭いあり。

2. バレイショ・ブドウ糖寒天培地

コロニーの生育は良好、培養2日目のコロニーは直径27-31mm、培養5日目のコロニーは直径75-80mm、コロニーはバラの花状を呈する、コロニー中心部で気菌糸が著しく発達する、コロニーの裏側は黄白色あるいは黄色、胞子のう胞子の形成は不良、ニンニクに類似した臭いあり、臭いはやや強い。

3. ツァベック寒天培地

コロニーの生育は比較的良好、培養2日目のコロニーの直径は22-24mm、培養5日目のコ

(4)

胞子のう柄は長さ87.5-320μm、幅は基部で3-7.5μm、先端に向けて先細り、1.0-2.5μmとなる。胞子のう柄はしばしば基部で分岐する。胞子のうは球形、直径15-30μm、内部に多数の胞子のう胞子を含む、離脱後やや不明瞭なカラーを残す。胞子のう胞子は楕円形、希に腎臓形、表面は平滑、7.5-12.5×5-7.5μm、厚膜胞子は比較的多数形成される。単独、希に連鎖することがある。時に数本の菌糸を周囲に出すことがある。楕円形また垂球形、12.5-30×7.5-15μm。または直径12.5-15μm。接合胞子は観察されない。

3. 生理的性質

最適生育条件

pH: 6-9

温度: 20-30℃

生育の範囲

pH: 4-10

温度: 5-40℃

以上の菌学的諸性質に従い本発明の菌株(SAM-

(6)

0219) の分類学的位置の検索を、J.A.von Arx, "The Genera of Fungi sporulating in Pure Culture," 3rd ed., J.Cramer, 1981、および K.H. Domsch, W.Gams, & T.H.Anderson, "Compendium of Soil Fungi," Academic Press, 1980 に準拠して求めると、胞子のう柄の先端に球状の胞子のうを形成する、柱軸を持たない、胞子のう胞子に付属糸がない、培養菌糸がニンニクに類似した臭いを発する、ということから本菌株は Mortierella 属に属する真菌であると考えられる。

そこで、W.Gams, "A Key to the species of Mortierella," Persoonia 9, 381-391, 1977 に準拠して既知の Mortierella 属の種類と菌学的諸性質を比較すると、本菌株はコロニーがビロード状でない、培養菌糸がニンニクに類似した臭いを発する、胞子のう柄が長さ87.5-320 μ m で分岐は下部でのみ生じ、葡萄の房状に分岐しない、胞子のうは内部に多数の胞子のう胞子を含む、ということから Mortierella 属 Mortierella 亜属 (Sugen. Mortierella) Hygrophila 節 (Sect.

Hygrophila) に含まれると考えられる。

Hygrophila 節には22種が含まれている。本菌株とこれら22種と菌学的諸性質を比較すると、本菌株は Mortierella zychae, M.elongatula, および M.elongata の3種に類似すると考えられる。そこで、K.H.Domsch, W.Gams, & T.-H.Anderson, "Compendium of Soil Fungi," Academic Press, 1980、W.Gams, "Some new or noteworthy species of Mortierella," Persoonia 9, 111-140, 1977)、および G.Linnemann, "Mortierella Coemans 1863," H. Zycha & R.Siepmann, "Mucorales Eine Beschreibung Aller Gattungen und Arten dieser Pilzgruppe," pp.155-140, J.Cramer, 1969 を参考にして、本菌株とこれら3種と菌学的諸性質を比較した。本菌株は、M.zychae とは胞子のう柄の長さで、基部の幅、胞子のうの大きさで、明瞭に異なる。M.elongatula とは胞子のう胞子の形態と大きさで、明瞭に異なる。M.elongata とは胞子のう柄がやや短い、厚膜胞子の形態が楕円形または垂球形でときに連鎖することがあり、さらに厚膜胞子がとき

(7)

(8)

に数本の菌糸を周囲に出す、という点で異なるが、本発明者らはこのような差異は本菌株を

Mortierella elongata と別種であるとするには十分でないと判断した。そこで、本発明者らは本菌株を Mortierella elongata SAM 0219 と同定した。SAM 0219株は昭和61年3月19日に通商産業省工業技術院微生物工業技術研究所(FRI)に受託番号FERM P-8703として寄託されている。

本発明に使用される菌株を培養する為には、その菌株の胞子、菌糸又は予め培養して得られた前培養液を、液体培地又は固体培地に接種し培養する。液体培地の場合に、炭素源としてはグルコース、フラクトース、キシロース、サッカロース、マルトース、可溶性デンプン、糖蜜、グリセロール、マンニトール等の一般的に使用されているものがいずれも使用できるが、これらに限られるものではない。窒素源としてはペプトン、酵母エキス、麦芽エキス、肉エキス、カザミノ酸、コーンステイブリカー等の天然窒素源の他に、尿素等の有機窒素源、ならびに硝酸ナトリウム、硝酸アン

モニウム、硫酸アンモニウム等の無機窒素源を用いることができる。この他必要に応じてリン酸塩、硫酸マグネシウム、硫酸鉄、硫酸銅等の無機塩及びビタミン等も微量栄養源として使用できる。これらの培地成分は微生物の生育を害しない濃度であれば特に制限はない。実用上一般に、炭素源は0.1~30重量%、好ましくは1~10重量%、窒素源は0.01~5重量%、好ましくは0.1~2重量%の濃度とするのが良い。又、培養温度は5~40℃、好ましくは20~30℃とし、培地のpHは4~10、好ましくは6~9として、通気攪拌培養、振盪培養、又は静置培養を行なう。培養は通常2~10日間行う。

固体培地で培養する場合は、固形物重量に対して50~100重量%の水を加えたふすま、もみガラ、米ぬか等を用い、5~40℃、好ましくは20~30℃の温度において、3~14日間培養を行う。この場合に必要に応じて培地中に窒素源、無機塩類、微量栄養源を加えることができる。

このように培養して、菌体内に、ビスホモ-7

(9)

(10)

ーリノレン酸を含有する脂質が生成蓄積される。液体培地を使用した場合には、培養菌体から、次のようにしてビスホモ－ーリノレン酸の採取を行なう。

培養終了後、培養液より遠心分離及び濾過等の常用の固液分離手段により培養菌体を得る。菌体は十分水洗し、好ましくは乾燥する。乾燥は凍結乾燥、風乾等によって行うことができる。乾燥菌体は、好ましくは窒素気流下で有機溶媒によって抽出処理する。有機溶媒としてはエーテル、ヘキサン、メタノール、エタノール、クロロホルム、ジクロロメタン、石油エーテル等を用いることができ、またメタノールと石油エーテルの交互抽出や、クロロホルム－メタノール－水の一層系の溶媒を用いた抽出によっても良好な結果を得ることができる。抽出物から減圧下で有機溶媒を留去することにより、高濃度のビスホモ－ーリノレン酸を含有した脂質が得られる。

また、上記の方法に代えて湿菌体を用いて抽出を行うことができる。この場合にはメタノール、

エタノール等の水に対して相溶性の溶媒、又はこれらと水及び／又は他の溶媒とから成る水に対して相溶性の混合溶媒を使用する。その他の手順は上記と同様である。

上記のようにして得られた脂質中には、ビスホモ－ーリノレン酸が脂質化合物、例えば脂肪の構成成分として含まれている。これらを、直接分離することもできるが、低級アルコールとのエステル、例えばビスホモ－ーリノレン酸メチルとして分離するのが好ましい。このようなエステルにすることにより、他の脂質成分から容易に分離することができ、また、培養中に生成する他の脂肪酸、例えばパルミチン酸、オレイン酸、リノール酸等（これらも、ビスホモ－ーリノレン酸のエステル化に際してエステル化される）から容易に分離することができる。例えば、ビスホモ－ーリノレン酸のメチルエステルを得るには、前記の抽出脂質を無水メタノール－塩酸5%～10%、BF₃－メタノール10%～50%等により、室温にて1～24時間処理するのが好ましい。

(11)

前記の処理液からビスホモ－ーリノレン酸メチルエステルを回収するにはヘキサン、エーテル、酢酸エチル等の有機溶剤で抽出するのが好ましい。次に、この抽出液を無水酢酸ナトリウム等により乾燥し、有機溶媒を好ましくは減圧下で留去することにより主として脂肪酸エステルから成る混合物が得られる。この混合物中には、目的とするビスホモ－ーリノレン酸メチルエステルの他に、パルミチン酸メチルエステル、ステアリン酸メチルエステル、オレイン酸メチルエステル等が含まれている。これらの脂肪酸メチルエステル混合物からビスホモ－ーリノレン酸メチルエステルを単離するには、カラムクロマトグラフィー、低温結晶化法、尿素包接体法等を、単独で、又は組み合わせて使用することができる。

こうして単離されたビスホモ－ーリノレン酸メチルからビスホモ－ーリノレン酸を得るには、アルカリで加水分解した後、エーテル、酢酸エチル等の有機溶媒で抽出すればよい。

また、ビスホモ－ーリノレン酸をそのメチル

(13)

(12)

エステルを経ないで採取するには、前記の抽出脂質をアルカリ分解（例えば5%水酸化ナトリウムにより室温にて2～3時間）した後、この分解液から、脂肪酸の抽出・精製に常用されている方法により抽出・精製することができる。

次に、実施例により、この発明をさらに具体的に説明する。

〔ビスホモ－ーリノレン酸の製造方法〕

実施例1

グルコース5%、ペプトン0.5%、酵母エキス0.3%及び麦芽エキス0.3%を含む培地（pH6.0）50mlを500ml溶坂口フラスコに入れ、120℃で20分間殺菌した。モルティエラ・エロンガタSAM 0219 (FERM P-8703) 1白金耳を接種し、レシプロシェーカー(110rpm)により28℃で5日間振盪培養した。培養後、濾過にて菌体を回収し、十分水洗した後、凍結乾燥した。これにより、1.2gの乾燥菌体を得た。この菌体より、クロロホルム－メタノール－水の一層系の溶媒を用いるBligh & Dyerの抽出法によって総脂質を抽出した

(14)

ところ、290mgの脂質が得られた。この脂質を無水メタノール-塩酸(95:5)を用いて20℃にて3時間処理することによってメチルエステル化し、エーテルで抽出して180mgの脂肪酸メチルを得た。これをさらにカラムクロマトグラフィーによって分離し、ビスホモ-γ-リノレン酸メチル画分を分取し、ロータリーエポレーターによって溶媒を留去した結果、5.2mgの精製されたビスホモ-γ-リノレン酸メチルを得た。本標品と市販のビスホモ-γ-リノレン酸をメチルエステル化し、カラムクロマトグラフィーによって単離精製して調製したビスホモ-γ-リノレン酸メチル標準サンプルについて、ガスクロマトグラフィー分析、高速液体クロマトグラフィー分析及、質量分析、及びNMR分析によって比較を行なったところ、両者はいずれの分析においても一致した。精製前及び精製後のビスホモ-γ-リノレン酸メチル量は培地当り、それぞれ0.18mg/ml及び0.10mg/ml、乾燥菌体当り、それぞれ7.5mg/g及び4.3mg/gであった。

(15)

exigua, IF0 8571)、及びモルティエラ・ヒグロフィラ (*Mortierella hygrophila*, IF0 5941)について実施例1と同様な操作を行なったところ、それぞれ6.5mg、9.3mgの脂肪酸メチルを得た。

これらの脂肪酸メチル中に含まれるビスホモ-γ-リノレン酸メチルを単離・精製したところ、それぞれの菌株について2.7mg、及び4.5mgが得られた。

実施例4

グルコース2%、酵母エキス1%、Tween 20 0.2%及び種々の炭化水素、脂肪酸ナトリウム又は油脂0.5%を含む培地(pH6.0)20mlを100ml容マイヤーに入れ、120℃で20分間殺菌した。モルティエラ・エロンガタSAM 0219 (FERM P-8703) 1白金耳を接種し、ロータリーシェーカー(200rpm)により28℃で5日間培養した。得られた菌体について、実施例1と同様に抽出、加水分解、及びメチルエステル化を行なった。培地に添加した種々の炭化水素、脂肪酸ナトリウム、及び油脂それぞれについて、得られた乾燥菌体重

(17)

実施例2

実施例と同じ組成の培地5ℓを15ℓジャーファーメンターに仕込み、120℃で40分間殺菌後、モルティエラ・エロンガタSAM 0219 (FERM P-8703)の前培養液200mlを接種した。30℃、通気量0.5v.v.で3日間通気攪拌培養を行ない、得られた湿菌体370g(乾燥重量120g)について、実施例1と同様に抽出、加水分解、メチルエステル化を行なったところ、総脂質31g、混合脂肪酸メチル19gを得た。このもののビスホモ-γ-リノレン酸メチル含量は5%、生成量は培地当り0.19g/ℓ、乾燥菌体当り7.9mg/gであった。

又、培養終了後、濾過によって得られた培養濾液4,050mlを乾燥後、実施例1と同様に抽出、加水分解、及びメチルエステル化を行なったところ、5%のビスホモ-γ-リノレン酸メチルを含む混合脂肪酸メチル127mgを得た。

実施例3

モルティエラ・エキシクア (*Mortierella*

(16)

量、総脂質量、総脂肪酸メチル量、ビスホモ-γ-リノレン酸含量、及び培地当りのビスホモ-γ-リノレン酸メチル生成量は下表のようになった。

添加物	乾燥菌体重量 (mg)	総脂質量 (mg)	総脂肪酸メチル量 (mg)	ビスホモ-γ-リノレン酸 [%]	ビスホモ-γ-リノレン酸の培地当り生成量 (mg/ml)
ヘキサデカン	290	76	68	4.8	0.16
オクタデカン	330	82	75	5.0	0.19
オレイン酸ナトリウム	310	80	74	5.1	0.19
リノール酸ナトリウム	320	83	73	5.9	0.22
オリーブ油	390	95	82	5.8	0.24
綿実油	410	105	91	6.0	0.27
ヤシ油	370	91	84	5.5	0.23
無添加	1200	290	180	5.0	0.18

標準培地に脂肪酸ナトリウム又は油脂類を添加した場合、ビスホモ-γ-リノレン酸の生成量は無添加区にくらべ、2~20%向上した。

(18)

手 続 補 正 書 (自 発)

昭和62年1月28日

特許庁長官 熊 田 明 雄 殿

1. 事件の表示

昭和61年特許願第158650号

2. 発明の名称

ビスホモア-リノレン酸の製造方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名称 (190) サントリー株式会社

4. 代 理 人

住所 〒105 東京都港区虎ノ門一丁目8番10号

静光虎ノ門ビル 電話 (504) 0721

氏名 井堀士(6579) 青 木 朗 印

(外4名)

5. 補正の対象

- (1) 明細書の「特許請求の範囲」の欄
- (2) 明細書の「発明の詳細な説明」の欄
- (3) 受託証の写し



カー(200rpm)により28℃で4日間培養後、種々の脂肪酸ナトリウム又は油脂100mgを120℃で15分間殺菌後、添加し、さらに同様に2日間培養した。得られた菌体について、実施例1と同様に抽出、加水分解、及びメチルエステル化を行なった。培地に添加した種々の脂肪酸ナトリウム、及び油脂それぞれについて、得られた乾燥菌体当り、及び培地当りのビスホモア-リノレン酸メチル生成量は下表のようになった。

添 加 物	ビスホモア-リノレン酸メチル	
	mg/g	mg/ml
ステアリン酸ナトリウム	9	0.14
オレイン酸ナトリウム	10	0.17
リノール酸ナトリウム	11	0.19
リノレン酸ナトリウム	12	0.17
オリーブ油	9	0.20
大豆油	10	0.22
アマニ油	10	0.19
無 添 加	8	0.12

6. 補正の内容

- (1) 特許請求の範囲を別紙の通りに補正する。
- (2) ① 明細書第3頁第18行目、及び第3頁第19行目から第20行目「8703号」の次に『(微工研条第1239号)』を加入する。
- ② 同第9頁第8行目「寄託されている。」を『寄託され、FERM BP-1239として国際寄託に移管された。』に補正する。
- ③ 同第14頁第14行目、第16頁第4行目から第5行目、及び第17頁第15行目「(FERM P-8703)」の次に『(FERM BP-1239)』を加入する。
- ④ 同第18頁第20行目の次に、次の記載を加入する。

『実施例5』

グルコース2%、酵母エキス1%を含む培地(pH6.0)20mlを100ml容マイヤーに入れ、120℃で20分間殺菌した。モルティエラ・エロンガタSAM 0219(FERM P-8703)(FERM BP-1239)1白金耳を接種し、ロータリーシェー

(2)

培養途中(培養4日後)に脂肪酸、油脂類などを添加することにより対照である無添加区よりもビスホモア-リノレン酸生成量は10~80%上昇した。』

- (3) 受託証の写しを追完する。

7. 添付書類の目録

- (1) 補正特許請求の範囲 1 通
- (2) 受託証の写し 1 通

2. 特許請求の範囲

1. モルティエラ (Mortierella) 属に属し、ビスホモ-ア-リノレン酸生産能を有する微生物を培養して、ビスホモ-ア-リノレン酸、又はビスホモ-ア-リノレン酸を含有する脂質を生成せしめ、そしてビスホモ-ア-リノレン酸を採取することを特徴とするビスホモ-ア-リノレン酸の製造方法。

2. 培地へ炭化水素、脂肪酸、脂肪酸塩または油脂を添加することを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の方法。

3. 培養中の培養液へ脂肪酸、脂肪酸塩または油脂を添加することを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の方法。

7. 新寄託機関の名称

工業技術院微生物工業技術研究所

8. 新受託番号

微工研発条寄第1239号
(FERM BP-1239)

9. 添付書類の目録

新受託番号を証明する書面 1通

受託番号変更届

昭和62年1月18日

特許庁長官 黒田明雄 殿

1. 事件の表示

昭和61年特許願第158650号

2. 発明の名称

ビスホモ-ア-リノレン酸の製造方法

3. 手続をした者

事件との関係 特許出願人

名称 (190) サントリー株式会社

4. 代理人

住所 〒105 東京都港区虎ノ門一丁目8番10号

静光虎ノ門ビル 電話 (504) 0721

氏名 弁理士 (6579) 青木 朗 (外4名)

5. 旧寄託機関の名称

工業技術院微生物工業技術研究所

6. 旧受託番号

微工研函寄第8703号

(FERM P-8703)



手続補正書 (自発)

昭和62年6月18日

特許庁長官 黒田明雄 殿

1. 事件の表示

昭和61年特許願第158650号

2. 発明の名称

ビスホモ-ア-リノレン酸及びこれを含有する脂質の製造方法 (新名称)

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名称 (190) サントリー株式会社

4. 代理人

住所 〒105 東京都港区虎ノ門一丁目8番10号

静光虎ノ門ビル 電話 504-0721

氏名 弁理士 (6579) 青木 朗 (外4名)

5. 補正により増加する発明の数 1



6. 補正の対象

- (1) 明細書の「発明の名称」の欄
- (2) 明細書の「特許請求の範囲」の欄
- (3) 明細書の「発明の詳細な説明」の欄

6. ~~補正により増加する発明の数~~

7. 補正の内容

(1) 明細書の発明の名称の欄を『ビスホモアーリーノレン酸及びこれを含有する脂質の製造方法』に補正する。

(2) 特許請求の範囲を別紙の通りに補正する。

(3) ① 明細書第1頁第15行目「酸の」を「酸、及びこれを含有する脂質の」に補正する。

② 同第2頁第12行目「酸を」を「酸、及びこれを含有する脂質を」に補正する。

③ 同第3頁第1行目「製造方法」を「製造方法；及びモルティエラ属に属しビスホモアーリーノレン酸生産能を有する微生物を培養してビスホモアーリーノレン酸を含有する脂質を生成せしめ、そしてこれを採取することを特徴とするビスホモアーリーノレン酸を含有する脂質の製造方法」

に補正する。

8. 添付書類の目録

特許請求の範囲

1 通

(2)

(3)

2. 特許請求の範囲

1. モルティエラ(Mortierella)属に属し、ビスホモアーリーノレン酸生産能を有する微生物を培養して、ビスホモアーリーノレン酸、又はビスホモアーリーノレン酸を含有する脂質を生成せしめ、そしてビスホモアーリーノレン酸を採取することを特徴とするビスホモアーリーノレン酸の製造方法。

2. 培地へ炭化水素、脂肪酸、脂肪酸塩または油脂を添加することを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の方法。

3. 培養中の培養液へ脂肪酸、脂肪酸塩または油脂を添加することを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の方法。

4. モルティエラ(Mortierella)属に属し、ビスホモアーリーノレン酸生産能を有する微生物を培養してビスホモアーリーノレン酸を含有する脂質を生成せしめ、そしてこれを採取することを特徴とするビスホモアーリーノレン酸を含有する脂質の製造方法。

(1)

5. 培地へ炭化水素、脂肪酸、脂肪酸塩または油脂を添加することを特徴とする特許請求の範囲第4項記載の方法。

6. 培養中の培養液へ脂肪酸、脂肪酸塩または油脂を添加することを特徴とする特許請求の範囲第4項記載の方法。

(2)

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成6年(1994)1月18日

【公開番号】特開昭63-14696

【公開日】昭和63年(1988)1月21日

【年通号数】公開特許公報63-147

【出願番号】特願昭61-158650

【国際特許分類第5版】

C12P 7/64 8114-4B

//(C12P 7/64

C12R 1:645)

手 続 補 正 書

平成5年4月16日

特許庁長官 麻 生 渡 殿

1. 事件の表示

昭和61年特許願第158650号

2. 発明の名称

ビスホモマーリノレン酸及びこれを含有する
脂質の製造方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名称 (190)サントリー株式会社

4. 代理人

住所 〒105 東京都港区虎ノ門一丁目8番10号

静光虎ノ門ビル 電話 03-3504-0721

氏名 井理士(6578)青 木 朗

(外4名)

5. 補正の対象

明細書の「発明の詳細な説明」の欄

6. 補正の内容

(1) 明細書第3頁第12行目「(Mortierella)
hygrophila)」を「(Mortierella hygrophila)」
に補正します。

(2) 同第7頁第9行目「Mortierelia)」を
「Mortierella)」に補正します。

(3) 同第7頁第20行目「Mortierella)Hygrophila)
を「Mortierella)Hygrophila)」に補正します。

(4) 同第8頁第4行目「zychae, M.elongatula)
を「zychae, M.elongatula)」に補正します。

(5) 同第8頁第3行目「Mortierella elongata)
を「Mortierella elongata)」に補正します。

(6) 同第15頁第11行目「カラムクロマトグラフ
ィー」を「カラムクロマトグラフィー」に補正し
ます。

(7) 同第15頁第14行目「分析及、」を「分析、」
に補正します。

(8) 同第16頁第2行目「実施例」を「実施例1」

に補正します。

(9) 同第16頁第20行目「エキシクア」を『エキシグア』に補正します。

(10) 同第17頁第1行目「exiqua」を「exigua」に補正します。